CAVELIER

ABO GAD OS

EDIFICIO SISKI

TelØfono: (57-1) 347 3611
Telefax: (57-1) 2118650
www.cavelier.com CARRERA 4 No. 72 - (57-1) 540 0860 cavelier@cavelier.com BOGOTA 8, COLOMBIA Fax in U.S.A.: (1-30. R1 QRRfl

Seæora Jefe de la SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NIJEVAS CREACIONES IlIIIIIIIflhIIIIIfflhIIIIUlIIIIIIIIIIIIIll
Superintendencia de Industria y Con No. 04097209-O06M000
E. D Fecha: 2008-07-24 15:59:02 Dep. 2020 NUECREACIONI

Ira 11 PATENIEIYII Eve: 379 FASENACIONALII
Act. 444 RESPUESTAREQUE Folios: 14

TrÆmite : 011 Evento : 379 Actuación: 444

Referencia
Asunto

Solicitante

Clase
CO7K
Fecha de

Expediente No. 04097209
Solicitud de Patente para: CONJUGADOS DE AGENTES TERAPEUTICOS 0 CITOTOXICOS UNIDOS A CARBAMATO Y PEPTIDO BIOL6GICAMENTE ACTIVOS.
THE ADMINISTRATORS OF THE TULANE
EDUCATIONAL FUND

A61K 031/027, A61K 038/008, A61K 047/042,

Presentación: 29 de septiembre de 2004.

1. Yo, Emilio FERRERO, obrando como apoderado del
solicitante en el asunto antes identificado, me refiero al Oficio No. 3985 notificado por fijación en lista del 14 de
marzo de 2008.

2. Mediante ml memorial de fecha 10 de jun10 de 2008
solicitØ un plazo de 30 dIas para atender el Oficio No.3985.

3. Mediante el Oficio No. 3985 se puso en conocimiento del
solicitante el informe que contiene las observaciones hechas por su Despacho sobre la presente solicitud de patente.

Claridad de las reivindicaciones y sustento descrit–vo:

En forma resumida su Despacho af Irma lo siguiente:

"La descripción carece de suficiencia al no sustentar el efecto tØcnico sorprendente de los conjugados solicitados; con los ejemplos presentados no se evidencia ni prueba de la

NIT 860.041.367-3

Z3 g
CAVELIER

ABOGADOS

resolución positiva del problema tØcnico planteado, ni un aporte que signifique un salto cualitativo en el estado de la
tØcnica".

"Se presenta un alto numero de clÆusulas que no especifican
la materia objeto de la reclarnación".

"Se utilizan tØrrninos denominativos que no definen la materia objeto de la invención como "agente terapØutico o
ci totóxico".

"La estructura molecular de los compuestos solicitados se define a partir de posibilidades indeterminadas".

"El capItulo reivindicatorio en general no curnplirIa con el requisito de unidad de invención".

"Las reivindicaciones 51-105 reclaman mØtodos de tratarniento, los cuales no son patentables".

"Las reivindicaciones 111-114 reclarnan el uso de los cornpuestos".

4. Modificación a una solicitud en trÆmite:

Con el objeto de atender las anteriores observaciones y de conformidad con lo establecido en el artIculo 34 de la Decisión 486, que permite al solicitante en cualquier momento del trÆmite efectuar modificaciones, sin ampliar el objeto de la invención inicialmente solicitada, me permito presentar un nuevo capItulo reivindicatorio, que comprende 32
reivindicaciones.

Atiendo a las observaciones de la manera siguiente:

5. Claridad y Unidad de Invención

Para subsanar las objeciones que sabre claridad, concision y
unidad de invención hizo su Despacho, en el nuevo pliego reivindicatorio se han hecho cambios que permiten apreciar claramente el objeto reivindicado en la presente solicitud de patente. Las modificaciones efectuadas fueron las siguientes:

CAVELIER

ABOGADOS

El Examinador seflala que la descripción no sustenta en forma suficiente las reivindicaciones por no presentar un efecto tØcnico sorprendente de los conjugados reclamados y que el capItulo reivindicatorio en general carece de concision y claridad.

Con el fin de subsanar las objeciones que por falta de sustento y claridad hizo su Despacho, las reivindicaciones originales 1-114 han sido reemplazadas por un nuevo juego 1-32, en las cuales se ha limitado el alcance de los compuestos reiviidicados a aquellos que son la esencia de la presente invenciOn y que se encuentran sustentados en las enseflanzas y ejemplos de la descripciOn.

Adicionalmente, los compuestos incluidos en el nuevo capItulo reivindicatorio se han limitado a aquellos que comparten las mismas caracterIsticas tØcnicas esenciales de tal manera que se debe tener por superada la objeciOn por concisiOn y a la vez, gracias a que una persona medianamente versada en la materia puede determinar el alcance del derecho solicitado y compararlo frente al estado del arte la objeciOn por claridad tambiØn debe tenerse por superada.

En particular, la nueva reivindicaciOn principal estÆ dirigida un compuesto precursor que incluye un agente citotOxico, el cual puede reaccionar para formar un compuesto conjugado de acuerdo con la presente invenciOn.

AdemÆs en el nuevo capItulo reivindicatorio de la definiciOn del sustituyente X se ha eliminado el tØrmino "agente terapØutico".

Sin embargo, en la definiciOn del sustituyente X no se ha reemplazado el tØrmino citotOxico, toda vez que este se encuentra extensamente soportado en la descripciOn, incluyendo por ejemplo una divulgaci6n completa en un numero significativo de ejemplos en la pagina 32 de la memoria descriptiva y una definiciOn mÆs especIfica y limitada se encuentra en la clÆusula modificada 4.

Adicionalmente, la base de la invenciOn es el conjugado en si mismo, incluyendo todos los elementos puestos de presente en la reivindicac–6n 1 modificada.

CAVELIER

ABOGADOS

Toda vez que el conjugado no depende del agente citotóxico elegido para obtener el efecto perseguido con el mismo, mi Representada considera que no es necesario incluir los sustituyentes citotóxicos especIficos en la clÆusula independiente.

De otro lado, la clÆusula 2 esta’ dirigida hacia un compuesto conjugado que se forma al unir una porción peptIdica objetivo al compuesto a travØs de un grupo carbamato. Mas aün, los compuestos conjugados de acuerdo con la presente invención proveen numerosas ventajas sobre compuestos conocidos en el estado del arte, por ejemplo: retención de la actividad biológica de la porciôn peptIdica objetivo, estabilidad mejorada del compuesto conjugado en plasma, y liberac–ôn intracelular del agente citotóxico. (p. 7, lIneas 1 a 14 de la descr–pci6n).

Ijnidad de Invenci6n

El Examinador manifiesta en el oficio que existen multiples grupos de invenciôn que fueron identificados durante el examen, a saber: grupo 1 (clÆusulas 1-51) y grupo 2 (clÆusulas 106-110), puesto que presuntamente las formulas presentadas representaban compuestos estructuralmente
diferentes.

Con el fin de subsanar esta objeción, la materia anteriormente revelada en la clÆusula 106 se presenta en la clÆusula independiente 1 modificada; y la materia anteriormente presentada en la reivindicación 1 se encuentra en la nueva reivindicaciôn 2 que depende de la clÆusula 1. En vista de esta modificación, la materia de las anteriores clÆusulas 1-51 y 106-110 ha sido unificada en un ünico concepto comün inventivo: el compuesto precursor (clÆusula 1) y su producto (clÆusulas 2 a 29).

De esta manera es claro que con las anteriores modificaciones del capItulo reivindicatorio queda tambiØn subsanada la objeción que por unidad de invención hizo su Despacho, ya que ahora, dicho pliego trata un unico concepto inventivo, desde el punto de vista estructural y de actividad, las cuales se encuentran debidamente sustentadas en la descripci6n.

Excepción de patentabilidad y reivindicación de uso

CAVELIER

ABOGADOS

Por otra parte, siguiendo la sugerencia del Examinador la materia reivindicada anteriormente en las clÆusulas 52-105 y 111-114, fueron eliminadas del nuevo capItulo reivindicatorio
ya que estaban relacionadas con mØtodos de tratamiento con
usos.

De esta manera es claro que con las anteriores modificaciones del capItulo reivindicatorio quedan subsanadas todas las objeciones formuladas por el Seæor Examinador y la solicitud cumple con los requisitos de los artIculos 25, 28 y 30 de la Decision 486 para ser objeto del privilegio de patente solicitado.

6. Sin embargo, en el evento que el Despacho considere que una modificac–6n adicional sea necesaria, respetuosamente le solicito hacer uso de la facultad que le otorga el artIculo 45 inciso 2. de la Decision 486 de la Com–siOn de la Comunidad Andina a efecto de requerir nuevamente de nuestra parte cualquier complementaciOn o aclaraciOn.

7. Anexos:

- Nuevo pliego reivindicatorio con 32 reivindicaciones;
- Formular–o para modificaciones;
- Recibo por valor de $103.000 por concepto de modificaciones
en solicitud pendiente;

Seæora Jefe,

EMILIO FERRERO
T.P.A. No. 31.929

COLO-11876-841-002-9
PAMG\AMG\ID-131117\WPC11876 No. M_2008_131117\AIVIG

CAVELIER ABOGADOS COLO-1 1876-841-002-9 ID-131177

(1 S

I Espaclo reservado para el adhesivo de radicaciOn Industria Comercio
S U P E R I N T E N D E N C I A

FORMULARIO UNICO DE CORRECCIONES Y MODIFICACIONES

0 SOLICITUD DE:

LI Correcciôn de Error Material Modificación a una solicitud
Nombre: THE ADMINISTRATORS OF THE
TULANE EDUCATIONAL FUND

2 Sociedad constituida existente bajo las leyes del
SOLICITANTE Estado de Lousiana, Estados Unidos de America.

IDENTIFICACION
Dirección: 1430 Tulane Ave.,

New Orleans, c c El] NIT Eli

Lousiana 70112,
Estados Unidos de America CE. LII Otro Eli

Domicillo: New Orleans, NOmero:
Lousiana 70112,
Estados Unidos de America
TelØfono: 546 09 70 Fax: 249 40 70

E-mail: clientes@camyp.com

IDENTIFICACION 0 Nombre: Emilio FERRERO
Dirección: Carrera 4a No. 72-35 C.C. II NIT [I
REPRESENTANTE TelØfono: 3473611 Fax: 2179211 C.E. E 0 otro 0
OAPODERADO E-mail: caveIier@cavelier.com
NOmero:438.019 TIP 31.929

0 NUmero de expediente: 04.097.209

(’) Descripción de la correcciOn o rnodificación
Presento nuevo capitulo reivindicatorio compuesto por 32 reivindicaciones con el fin de superar
las objeciones hechas por Su Despacho a esta solicitud de patente pido quo el examen de patentabilidad sea realizado sobre estas nuevas reivindicaciones presentadas.

0 Cornprobante de pago No. 08-58,044 Fecha: 21 de Iulio de 2008

0IJ

Anexos

Comprobante de pago de la tasa par $103.000, por concepto de modificaciones.

El] Poderes, si fuere el caso
Eli Documento que acredita la existencia representación legal de las partes, cuando sean
personas jurIdicas.

8 NOMBRE: EMILIO FERRERO FIRMA: z_(-
C.C. 438.019 do Usaquen T.P.A. 31.929

AMG

REIVINIJICACIONES

1. Un compuesto representado por la siguiente formula:

R3

(CH2)n 0
R

en donde:

X es un agente citotOxico;

n es un entero de 0 a 6, en donde (CH2)
aiquilo 0 un grupo cIclico.

R es N(R1R2), OR, o SR1, en donde R1 y R2 son, independientemente, hidr6geno a un grupo alquilo C111 recta o ramificado, y en donde R3 es un grupo NB(CH2)mSH y m=2 a 6, D o L cisteIna, una benzofenona, un grupo OH 6 es NH-Y -Z -Q.

en donde:

Y es una secuencia espaciadora hidrofilica seleccionada entre un peptido que incrementa la biodistribucion hidrofilica de dicho compuesto y un polimero hidrofIlico, o se omite;

Z es un pØptido ligador que, cuando se une a Q en terminal N o en un grupo amino de cadena lateral compatible de Q, preserva al menos 50% de la actividad biol6gica de Q, Z que

tiene la fórmula:

A-B -C -E -F, en donde:

A es D -Lys, D-Tyr, D-Ser, o L-Ser, o es suprimido;

B es D -Lys o D -Tyr, o es suprimido;

C es Lys, Ser, hSer, Thr, Nle, Abu, Nva, (2, 3, 0 4) 3-
piridil-Ala (Pal), Orn, Dab, flap, 4-NH2-Phe, D -4 -OH -Pro, o L-
4 -OH -Pro, o es suprimido;

E es D -Lys, D -Tyr, D-Ser, D -4 -OH -Pro, L -4 -OH -Pro, 3-yodo D -
Tyr, 3-5 diyodo-fl-Tyr, 3-astatina-D-Tyr, 3-5 astatina D -Tyr,
3-bromo-fi-Tyr, 3-5 dibromo-D-Tyr, D-Asn, L-Asn, D -Asp, L -Asp,
D-Glu, L-Glu, D-Gln, 0 L-Gln; y

F es fi-Lys, fi-Tyr, fi-Ser, L-Ser, D -4 -OH -Pro, L -4 -OH -Pro, 3-
yodo-D-Tyr, 3-5 diyodo-D-Tyr, 3-astatina-D-Tyr, 3-5 astatina-
D-Tyr, 3-bromo-D-Tyr, 3-5 dibromo-D--TYR, D-Asn, L-Asn, fl -Asp,
L -Asp, D-Glu, L-Glu, D-Gln, 0 L-Gln;

Con la condición que cuando A, B, C, y E son Tyr, Tyr, Lys, y
Tyr, respect ivamente, F no es Lys; y cuando A, B, C, y E son
Lys, Tyr, Lys, y Tyr, respect ivamente, F no es Tyr 0 Lys; y
cuando A y B estÆn suprimidos, y C y E son Lys y Tyr,
respectivamente, F no es Tyr o Lys; y

Q es una porción objetivo.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en donde
R3 es NH-Y -Z -Q y el compuesto es un compuesto conjugado
representado por la siguiente formula:

x
0 N
" "?Y

N

?*? Y

z

*’-?
a

0

R1-01 tCH2)n

3. El compuesto de las reivindicaciones 1 6 2, en donde dicho agente citotóxico es un agente de alquilación, un antibiótico, un antimetabolito, un inhibidor de tubulina, un inhibidor de topoisomerasa I o II, un agonista hormonal o antagonistas, un agente apoptótico, o un inmunomodulador.

4. El compuesto de la reivindicaciones 1 6 2, en donde dicho agente citotóxico es camptotecina, homocamptotecina, coichicina, combretastatina, dolistatina, doxorubicina, metotrexato, podofilotoxina, rizoxina, rizoxina D, un taxol, paclitaxol, CC1065, un maitansinoide, o derivados o anÆlogos

de esta.

5. El compuesto de las reivindicaciones 1 6 2, en donde dicha secuencia de espaciador hidrofIlica es un pØptido que incrementa la biodistribución hidrofIlica de dicho compuesto.

6. El compuesto de la reivindicaci6n 5, en donde dicho pØptido tiene la f6rmula U(V-V)n, en donde U es D-Pro, L -Pro, D -4 -OH-Pro, L -4 -OH -Pro, Sarcosina, Lys, Orn, Dab, Dap, 4-NH2-Phe, o (NH2-(CH2)mCOOH), donde m=2-10, inclusive, o es suprimido; cada V es independientemente seleccionado del grupo que consiste de: D-Ser, L-Ser, D-Thr, L-Thr, D-Gln, L-Gln, D-Asn, L-Asn, D -4 -OH-Pro, o L-4 hidroxi-Pro; y n=1-50, inclusive.

7. El compuesto de la reivindiacion 6 en donde al menos V es un D-aminoÆcido.

8. El compuesto de la reivindicaci6n 6, en donde V es independientemente D-Ser 0 L-Ser.

9. El compuesto de la reivindicaciôn 1 6 2, en donde dicha secuencia de espaciador hidrofIlica es un polImero hidrofIlico.

IQ-

10. El compuesto de la reivindicación 9, en donde dicho polImero hidrofilico es polietilenglicol, acetato de polivinilo, polivinhl alcohol, HPMP (N- (2-hidroxipropil)
metacrilamida) o copolImeros HPMA, a,f3-poli (N-hidroxietil) -
DL-aspartamida (PHEA), o a, f3-poli (N-hidroxipropil) -DL-aspartamida -

11. El compuesto de la reivindicación 1 6 2, en donde dicha porción objetivo es un pØptido b–olôgicamente activo.

12. El compuesto de la re–vindicación 11, en donde dicho pØptido biológicamente activo es somatostatina, bombesina, un pØptido KISS, un pØptido de urotensina II, pØptidos I y II de hormona de liberación de gonadotropina (GNRH), octreotida, depreotida, vapreotida, pØptido intestinal vasoactivo (VIP), colecistoquinina (CCK), factor de crecimiento similar a insulina (IGF), pØptidos que contienen RGD, pØptido de hormona que estimula el melanocito (MSH), neurotensina, calcitonina, un pØptido que comprende la region que determina la complementariedad de un anticuerpo de antitumor, glutationa, un pØptido Ævido de leucocito que comprende la secuencia de aminoÆcido YIGSR, la regiôn de unión de heparina de platelet factor-4 (PF-4), y una secuencia rica en lisina, pØptido natriurØtico atrial (ANP), un pØptido 13-amiloide, un antagonista opioide delta, annexin-V, endotelina,
interleuquina (IL) -1, IL-ira, IL -2, IL -B, leucotrieno B4
(LTB4), un pØptido quemotÆctico, un antagonista receptor GP lIb/Illa, factor de crecimiento epidermal, un inhibidor de elastasa de neutrófilo humano, inhibidor plasmin, un pØptido antimicrobial, apticida P280, apticida P274, un receptor de
trombospondina, bitistatina, receptor tipo I ciclasa adenilil
pituitaria (PAC), cadena a fibrin, o derivados o anÆlogos de

esta.

13. El compuesto de la reivindicación 11, en donde dicho pØptido biológicamente activo es un anticuerpo o un fragmento de anticuerpo.

14. El compuesto de la reivindicaci6n 12, en donde dicho pØptido avido de leucocito es P483H, dicho antagonista opioide delta es ITIPP (psi), dicho pØptido quimotÆctico es N- formil -metionil -leucil - fenilalanina-lisina (fMLFK), dicho antagonista receptor GP lib/lila es]JMP444, dicho inhibidor de elastasa neutrôfilo humano es EPI-HNE-2 o EPI-HNE-4, dicho receptor de trombospondina es TP-1300.

15. El compuesto de la reivindicación 11, en donde dicho pØptido biológicamente activo objetiva dicho compuesto a una cØlula o tejido en el cuerpo de un mamIfero.

16. El compuesto de la reivindicación 1 6 2, en donde dicha porción objetivo es Ufl pØptido derivado de una librerIa de muestras de f ago, o substituciones moderadas de esta, que objetiva dicho compuesto a la cØlula o tejido en el cuerpo de

un mamIfero.

17. El compuesto de la reivindicaci6n 15 o 16, en donde dicha cØlula o tejido comprende una cØlula de cancer, Ufl glóbulo blanco, tejido cardiaco, tejido cerebral, o un tubØrculo infectado con la tuberculosis, 6 en donde dicho tejido es un tumor o un vaso sanguIneo angiogØnico proliferativo.

18. El compuesto de la reivindicaci6n 17, en donde dicho vaso sanguIneo estÆ en el ojo.

19. El compuesto de la reivindicación 1 6 2, en donde Q es un pØptido de somatostatina o un anÆlogo del mismo.

20. El compuesto de la reivindicación 1 6 2, en donde Q es un pØptido de bombesina 6 un anÆlogo del mismo.

21. El compuesto de la re–vindicac–6n 13, en donde dicho anticuerpo es un anticuerpo monoclonal o un fragmento de

este.

22. El compuesto de la reivindicaci6n 1 6 2, en donde Z es D-Ser-Nle-IJ-Ser-D-Ser, D-Ser-Lys-]J-Ser-D-Ser, D-Ser-Lys-D-Tyr-D-Tyr, D-Ser-Lys-D-Tyr-D-Ser, D-Ser-Ser-D-Lys-]J-Ser, D-Ser-
Ser-D-Lys-Ser, D-Ser-Nle-D-Tyr-D-Ser, D-Ser-Pal-D-Tyr-]J-Ser,
D-Ser-Thr-D-Tyr-D-Ser, Lys-D-Ser-]J-Ser, Ser-D-Lys-D-Ser, Ser-D-Lys--Ser, Nle-D-Tyr-D-Ser, Lys-IJ-Tyr-D-Ser, Pal-D-Lys-D-Ser,
Thr-D-Tyr-D-Ser, D-Ser-D-Lys, D-Ser-D-Tyr, D -Lys-D -Lys, D -
Lys-D -Tyr, D -Tyr-D-Lys, a en donde Z tiene la fórmula: E -F,

en donde:

E es D -Lys, D -Tyr, D-Ser, D -4 -OH -Pro, L -4 -OH -Pro, 3-yodo-iJ-
Tyr, 3-5 diyodo-D-Tyr, 3-astatina-D-Tyr, 3-5 astatina-IJ-Tyr,
3-bromo-D-Tyr, 3-5 dibromo-D- Tyr, D-Asn, L-Asn, D -Asp, L -
Asp, D-Gln, 0 L-Gln; y

F es D -Lys, D -Tyr, IJ-Ser, L-Ser, D -4 -OH -Pro, L-4 -OH -Pro, 3-
yodo-D Tyr, 3-5 diyodo-D-Tyr, 3-astatina-]J-Tyr, 3-5 astatina-
D-Tyr, 3-bromo-]J-Tyr, 3-5 dibromo-D-Tyr, D-Asn, L-Asn, D -Asp,
L -Asp, D-Glu, L-Glu,]J-Gln, o L-Gln.

23. El compuesto de la reivindicación 1 6 2, en donde R comprende 1 a 11 Ætomos de carbono.

24. El compuesto de la reivindicación 23, en donde R comprende 1 a 8 Ætomos de carbono.

25. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el grupo R3
puede ser usado para unir un pØptido, proteina, a anticuerpo
a dicho compuesto.

26. El compuesto de la reivindicaciôn 25, en donde R3 es NH(CH2)mSH y m=2 a 6, y en donde dicho pØptido, proteIna, a

anticuerpo es adhiere a dicho compuesto mediante una reacción

tiol.

27. El compuesto de la reivindicación 25, en donde R3 es una benzofenona y dicho pØptido, proteIna, o anticuerpo se adhiere a dicho compuesto mediante una reacciôn fotoquImica.

28. El compuesto de la reivindicación 27, en donde dicha benzofenona es p-benzoil-fenilalanina.

29. Un medicamento para el tratamiento de una enfermedad que comprende una cantidad terapØuticamente efectiva de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 2

a 24.

30. El medicamento de la reivindicaci6n 29, en donde dicha enfermedad es enfermedad inflamatoria del intestino, artritis reumatoide, acromegalia, tuberculosis, un tumor del pulm6n, pecho, cerebro, ojo, pr6stata a colon; un tumor de origen neuroendocrino; a angiogenesis que causa proliferación inapropiada de los vasos sanguIneos.

31. El medicamento de la reivindicac–ôn 30, en donde dicho tumor de origen endocrino es sIndrome carcinoide.

32. El medicamento de la reivindicación 30, en donde dichos vasos sanguIneos estÆn en el ojo.

AMG\ANG\ID-131116\WPC11876

RECIBI3 DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No___________________________

SIJPERINTENDENCIA BE INDUSTRIA V COIIERCIO

NIT i 800176089-2

RECIBO OFICIAL BE CAM: 08 - 58.044
FECHA : JULIO 21 BE 2008

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIAY COMERCIO

IIlIllIllrnIIlIIflhIIIIfflhllilIlltIllttl
No. 04-097209-,000060000
Fecha: 2008-07-24 15:59:02 Dep. 2020 NUECREACIONI Tm. 11 PATENTEIYII Eve: 379 FASENACIONALII Act. 444 RESPUESTAREQUE Folios: 14

*$*** CONSIGNACION ****$

DEPOSITANTE TIPO PASO BANCO CUENTA Na. PASO FECHA P60

CAVELIER ABOSADOS CONSI6NACION BANCO DE BOGOTA 062754387 664062 21107/2008

Vr. PASO

50380.000.00

***** C 0 N C E P 1 0 **!**

- -

CANT. RENtISTICO CONCEPTO TOTAL CONCEPTO ---

1 50005-01-03 CANBID BE HODAUDAD V MDDIFICA 12 NARCAS V LEHAS CONERCIALES 103?000.00
TOTAL: 103.000.00

SON: CIENTO IRES NIL PESOS

RESPONSABLE

11111 11111111 III 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 11111 111111 III 11111 liii

US005948750A

United States Patent [19] [11] Patent Number: 599489750

Garsky et al. [45] Date of Patent: Sep. 7, 1999

[54] CONJUGATES USEFUL IN THE
TREATMENT OF PROSTATE CANCER

[75] Inventors: Victor M. Garsky, Blue Bell; Deborah
Defeo-Jones, Lansdale; Dong-Mel
Feng, Blue Bell, all of Pa.

[73] Assignee: Merck & Co., Inc., Rahway, NJ.

[21] AppI. No.: 08/950,805

[22] Filed: Oct. 14, 1997

[60]

[51]

[52]

[58]

[561

Related U.S. Application Data

Provisional application No. 60/042,921, Apr. 4, 1997, and provisional application No. 60/029,224, Oct. 30, 1996,

List. Cl.6..........................A61K 38/08; A61K 38/14; C07K 7/06; C07K 9/00
U.S. Cl...................................... 514/2; 514/8; 514/16; 514/17; 514/18; 514/34; 514/283; 530/300; 530i322; 530/328; 530/329; 530/330; 530/345; 536/6.4; 540/478
Field of Search...............................514/2, 8, 16, 17, 514/18, 34, 283; 530/300, 322, 328, 329,
330, 345; 536/6.4, 17.2; 540/478

References Cited

U.S. PATENT DOCUMENTS

4,277,466 7/1981 Trouet.......................................514/34
4,296,105 10/1981 Baurain et al............................ 514/34
4,388,305 6/1983 Trouet et al.............................. 514/19
4,703,107 10/1987 Monsigny et al....................... 530/330
4,753,984 6/1988 Delmotte et al....................... 525/54.1
4,828,831 5/1989 Hannart et al....................... 424/85.91
4,870.162 9/1989 Trouet et al............................ 530/363
5,024.835 6/1991 Rao et al............................. 424/85.91
5,166,319 11/1992 Wrasidlo..............................530/391.1
5.169,933 12/1992 Anderson et al.................... 530/391.3
5,349,066 9/1994 Kaneko et a!..........................546/294

5,391,723 2/1995 Priest.....................................536/23.1
5,599,686 2/1997 DeFeo-Jones et a!.................43517,23

FOREIGN PATENT DOCUMENTS

1 463 575 2/1977 United Kingdom.
W096/00503 1/1996 WIPO.
WO 96/05863 2/1996 WIPO.
W097/12624 4/1997 WIPO.
W097/14416 4/1997 WIPO.

OTHER PUBLICATIONS

J. of Controlled Release, vol. 3. No. 47, pp. 271-281 (1997), by Nichifor, et al.
Eur. J. Biochem., vol. 95, pp. 115-119 (1979), by M. Pazsgay, et al.
Analytical Biochem., vol. 193, pp. 248-255 (1991), by M. Harnois-Pontoni, et al.

J. Med. Chem., vol. 34, pp. 3029-3035 (1991), by R. Mayer,
et al.

J. Med. Chem., vol. 26, pp. 633-638 (1983), by P. K. Chakravarty, et al.
J. of Med. Chem., vol. 26, No. 5, pp. 639-644 (1983), by P. K. Chakravarty, et al.
J. of Med. Chem., vol. 28, No. 8, pp. 1079-1088 (1985), by K. S. P. Bhushana Rao, et al.
Science, vol. 261, pp. 212-215 (1993), by P.,A. Trail, et al.

Primary Examiner-Jeffrey E. Russel
Attorney, Agent, or Firm-David A. Muthard; Mark R.
Daniel

[57] ABSTRACT

Chemical conjugates which comprise oligopeptides, having amino acid sequences that are selectively proteolytically cleaved by free prostate specific antigen (PSA) and known cytotoxic agents are disclosed. Such conjugates are useful in the treatment of prostatic cancer and benign prostatic hyper-trophy (BPH).

38 Claims, No Drawings

5,948,750

CONJUGATES USEFUL IN THE
TREATMENT OF PROSTATE CANCER

RELATED APPLICATION

The present patent application claims the benefit of pro-
visional application Ser. No. 60/042,921, filed Apr. 4, 1997,
now abandoned, and claims the benefit of provisional appli-cation Ser. No. 60/029,224, filed Oct. 30, 1996, now aban-doned.

BACKGROUND OF THE INVENTION

In 1994 cancer of the prostate gland is expected to be diagnosed in 200,000 men in the U.S. and 38,000 American males will die from this disease (Garnick, M. B. (1994). The Dilemmas of Prostate Cancer, Scientific American, April: 7241). Thus, prostate cancer is the most frequently diag-nosed malignancy (other than that of the skin) in U.S. men and the second leading cause of cancer-related deaths (behind lung cancer) in that group.
Prostate specific Antigen (PSA) is a single chain 33 kDa glycoprotein that is produced almost exclusively by the human prostate epithelium and occurs at levels of 0.5 to 2.0 mg/nil in human seminal fluid (Nadji, M., Taber, S. Z., Castro, A., et al. (1981) Cancer 48:1229; Papsidero, L., Kuriyama, M., Wang, M., et al. (1981). JNCI 66:37; Qui, S. D., Young, C. Y. F., Bihartz, D. L., et al. (1990), J. Urol. 144:1550; Wang, M. C., Valenzuela, L. A., Murphy, G. P., et al. (1979). Invest. Urol. 17:159). The single carbohydrate unit is attached at asparagine residue number 45 and accounts for 2 to 3 kDa of the total molecular mass. PSA is a protease with chymotrypsin-like specificity (Christensson, A., Laurell, C. B., Lilja, H. (1990). Eur. J. Biochem. 194:755-763). It has been shown that PSA is mainly respon-sible for dissolution of the gel structure formed at ejacula-tion by proteolysis of the major proteins in the sperm entrapping gel, Semenogelin I and Semenogelin II, and fibronectin (Lilja, H. (1985). J. Clin. Invest. 76:1899; Lilja, H., Oldbring, J., Rannevik, G., et al. (1987). J. Clin. Invest. 80:281; McGee, R. S., Herr, J. C. (1988). Biol, Reprod. 39:499). The PSA mediated proteolysis of the gel-forming proteins generates several soluble Semenogelin I and Semenogelin II fragments and soluble fibronectin fragments with liquefaction of the ejaculate and release of progres-sively motile spermatoza (Lilja, H., Laurell, C. B. (1984). Scand, J. Clin. Lab. Invest. 44:447; McGee, R. S., Herr, J. C. (1987). Biol. Reprod. 37:431). Furthermore, PSA may proteolytically degrade IGFBP-3 (insulin-like growth factor binding protein 3) allowing IGF to stimulate specifically the growth of PSA secreting cells (Cohen et al., (1992) J. Clin. Endo. & Meta. 75:1046-1053).
PSA complexed to alpha 1-antichymotrypsin is the pre-dominant molecular form of serum PSA and may account for up to 95% of the detected serum PSA (Christensson, A., Bj&k, T., Nilsson, 0., et al. (1993). J. Urol. 150:100-105; Lilja, H., Christensson, A., Dahln, U. (1991). Clin. Chem. 37:1618-1625; Stenman, U. H., Leinoven, J.,Alfthan, H., et al. (1991). Cancer Res. 51:222-226). The prostatic tissue (normal, benign hyperplastic, or malignant tissue) is impli-cated to predominantly release the mature, enzymatically active form of PSA, as this form is required for complex formation with alpha 1-antichymotrypsin (Mast, A. E., Enghild, J. J., Pizza, S. V., et al. (1991). Biochemistry 30:1723-1730; Perlmutter, D. H., Glover, G. I., Rivetna, M., et al. (1990). Proc. Nat!. Acad. Sci. USA 87:3753-3757). Therefore, in the microenvironment of prostatic PSA secret-ing cells the PSA is believed to be processed and secreted in

its mature enzymatically active form not complexed to any inhibitory molecule. PSA also forms stable complexes with alpha 2-macroglobulin, but as this results in encapsulation of PSA and complete loss of the PSA epitopes, the in vivo
S significance of this complex formation is unclear. A free,
noncomplexed form of PSA constitutes a minor fraction of the serum PSA (Christensson, A., Bjrk, T., Nilsson, 0., el al. (1993). J. Urol. 150:100-105; Lilja, H., Christensson, A,, Dahln, U. (1991). Clin. Chem. 37:1618-1625). The size of
10 this form of serum PSA is similar to that of PSA in seminal
fluid (Lilja, H., Christensson, A., Dahl6n, U. (1991). Clin. Chem. 37:1618-1625) but it is yet unknown as to whether the free form ofserum PSAmay be a zymogen; an internally cleaved, inactive form of mature PSA or PSA manifesting is enzyme activity. However, it seems unlikely that the free form of serum PSA manifests enzyme activity, since there is considerable (100 to 1000 fold) molar excess of both unre-acted alpha 1-antichymotzypsin and alpha 2-macroglobulin in serum as compared with the detected serum levels of the 20 free 33 kDa form of PSA (Christensson, A., Bjrk, T., Nilsson, 0., et al. (1993). J. Urol. 150:100-105; Lilja, H., Christensson, A., Dahln, U. (1991). Clin. Chem, 37:1618-1625).
Serum measurements of PSA are useful for monitoring
25 the treatment of adenocarcinoma of the prostate (Duffy, M.
S. (1989). Ann. Clin. Biochem. 26:379-387; Brawer, M. K. and Lange, P. H. (1989). Urol. Suppl. 5:11-16; Hara, M. and Kimura, H. (1989). J. Lab. Clin. Med. 113:541-548), although above normal serum concentrations of PSA have also been reported in benign prostatic hyperplasia and subsequent to surgical trauma of the prostate (Lilja, H., Christensson, A., Dahln, U. (1991). Clin. Chem. 37:1618-1625). Prostate metastases are also known to secrete immunologically reactive PSA since serum PSA is
35 detectable at high levels in pmstatectomized patients show-
ing widespread metatstatic prostate cancer (Ford, T. F, Butcher, D. N., Masters, R. W., et al. (1985). Brit. J. Urology 57:50-55). Therefore, a cytotoxic compound that could be activated by the proteolytic activity of PSA should be 40 prostate cell specific as well as specific for PSA secreting prostate metastases.
It is the object of this invention to provide a novel anti-cancer composition useful for the treatment of prostate

45 cancer which comprises oligopeptides, that are selectively
proteolytically cleaved by free prostate specific antigen (PSA) and that include a cyclic amino acid having a hydro-philic substituent, in conjugation with a cytotoxic agent. Another object of this invention is to provide a method of
50 treating prostate cancer which comprises administration of
the novel anti-cancer composition.

4"TkI43-0"A1101600W"T WHOM

Chemical conjugates which comprise oligopeptides, hay-
s5 ing amino acid sequences that are selectively proteolytically
cleaved by free prostate specific antigen (PSA) and that include a cyclic amino acid having a hydrophiic substituent, and known cytotoxic agents are disclosed. Such conjugates are useful in the treatment of prostatic cancer and benign 60 prostatic hyperplasia (BPH).

DETAILED DESCRIPTION OF THE
INVENTION

The instant invention relates to novel anti-cancer compo-
65 sitions useful for the treatment of prostate cancer. Such
compositions comprise the oligopeptides covalently bonded directly, or through a chemical linker, to a cytotoxic agent.

5,948,750

The oligopeptides are chosen from oligomers that are selec-
tively recognized by the free prostate specific antigen (PSA)
and are capable of being proteolytically cleaved by the enzymatic activity of the free prostate specific antigen. Such
a combination of an oligopeptide and cytotoxic agent may 5
be termed a conjugate.
The conjugates of the instant invention are further char-acterized by incorporation of a cyclic amino acid having a hydrophilic substituent as part of the oligopeptides, said cyclic amino acid which contributes to the aqueous solubil- 10 ity of the conjugate. Examples of such hydrophilic cyclic amino acids include but are not limited to hydroxylated, polyhydroxylated and alkoxylated proline and pipecolic acid moieties.

Ideally, the cytotoxic activity of the cytotoxic agent is 15 greatly reduced or absent when the oligopeptide containing the PSA proteolytic cleavage site is bonded directly, or through a chemical linker, to the cytotoxic agent and is intact. Also ideally, the cytotoxic activity of the cytotoxic agent increases significantly or returns to the activity of the 20 unmodified cytotoxic agent upon proteolytic cleavage of the attached oligopeptide at the cleavage site.
Furthermore, it is preferred that the oligopeptide is

selected from oligopeptides that are not cleaved or are 25 cleaved at a much slower rate in the presence of non-PSA
proteolytic enzymes when compared to the cleavage of the oligopeptides in the presence of free enzymatically active PSA.

For the reasons above, it is desireable for the oligopeptide 30 to comprise a short peptide sequence, preferably less than ten amino acids. Most preferably the oligopeptide comprises seven or six amino acids. Because the conjugate preferably comprises a short amino acid sequence, the solubility of the conjugate may be influenced to a greater extent by the 35 generally hydrophobic character of the cytotoxic agent com-ponent. Therefore, the hydrophilic substituents on the cyclic amino acid of the instant conjugates are selected to offset or diminish such a hydrophobic contribution by the cytotoxic agent. 40 While it is not necessary for practicing this aspect of the invention, a preferred embodiment of this invention is a conjugate wherein the oligopeptide, and the chemical linker if present, are detached from the cytotoxic agent by the proteolytic activity of the free PSA and any other native 45 proteolytic enzymes present in the tissue proximity, thereby presenting the cytotoxic agent, or a cytotoxic agent that retains part of the oligopeptide/linker unit but remains cytotoxic, into the physiological environment at the place of proteolytic cleavage. Pharmaceutically acceptable salts of 50 the conjugates are also included.
It is understood that the oligopeptide that is conjugated to
the cytotoxic agent, whether through a direct covalent bond or through a chemical linker, does not need to be the oligopeptide that has the greatest recognition by free PSA and is most readily proteolytically cleaved by free PSA. Thus, the oligopeptide that is selected for incorporation in such an anti-cancer composition will be chosen both for its selective, proteolytic cleavage by free PSA and for the cytotoxic activity of the cytotoxic agent-proteolytic residue 60 conjugate (or, in what is felt to be an ideal situation, the

unmodified cytotoxic agent) which results from such a cleavage. The term "selective" as used in connection with
the proteolytic PSA cleavage means a greater rate of cleav-age of an oligopeptide component ofthe instant invention by 65 free PSA relative to cleavage of an oligopeptide which comprises a random sequence of amino acids. Therefore, the

4

oligopeptide component ofthe instant invention is a prefered substrate of free PSA. The term "selective" also indicates that the oligopeptide is proteolytically cleaved by free PSA between two specific amino acids in the oligopeptide. The oligopeptide components of the instant invention are selectively recognized by the free prostate specific antigen (PSA) and are capable of being proteolytically cleaved by the enzymatic activity of the free prostate specific antigen. Such oligopeptides comprise an oligomer selected from: a) HaaXaaSer1rGlnISerSer (SEQ.ID.NO.: 1);
b) HaaTyrGlnlSerSer (SEQ.ID.NO.: 2);
c) HaaXaaLysTyrGlnlSerSer (SEQ.ID.NO.: 3);
d) HaaXaaLys1rGlnISerSer (SEQ.ID.NO.: 4);
e) HaaXaahArg1rrGln!SerSer (SEQ.ID.NO.: 5);
i) HaaXaahArgChaGlnlSerSer (SEQ.ID.NO.: 6);
g) HaaXaaSerTyrGlnlSerXaa (SEQ.ID.NO.: 7);
h) HaaTyrGlnlSerXaa (SEQ.ID.NO.: 8);
i) HaaXaaSerChgGlnlSerXaa (SEQ.ID.NO.: 9);
j) HaaChgGlnISerXaa (SEQ.ID.NO.: 10);
wherein Haa is a cyclic amino acid substituted with a hydrophilic moiety, Xaa is any amino acid, hArg is homoarginine, Cha is cyclohexylalanine and Chg is cyclo-hexyiglycine.
In an embodiment of the instant invention, the oligopep-tide comprises an oligomer that is selected from:
a) Haa1’rGthISerSerSerLeu (SEQ.ID.NO..- 11),
b) HaaXaaSerTyrGlnlSerAla (SEQ.ID.NO.: 12),
c) AlaHaaXaaSerT’r1rlSer (SEQ.ID.NO.: 13),
d) AlaAsnHaaXaaSerrGthISer (SEQ.ID.NO.: 14),
e) HaaXaaSer1rrGln!SerSerThr (SEQ.ID.NO.: 15), i) Haa1’rGhilSerSerThr (SEQ.ID.NO.: 16),
g) HaaXaaSerlyrGlnlSerSerSer (SEQ.JD.NO.: 17), h) Haa1rGlnlSerSerSer (SEQ.ID.NO.: 18),
i) HaaXaaLys’l)’rGlnlSerSerSer (SEQ.ID.NO.: 19), j) HaaXaahArgT’rGlnISerSerSer (SEQ.ID.NO,: 20), k) HaaXaaSerTyrGlnlSerSerLeu (SEQ.ID.NO.: 21);
1) HaaT’rGlnISerSerLeu (SEQ.ID.NO.: 22);
in) HaaXaaSerTyrGlnlSerLeu (SEQ.ID.NO.: 23); n) Haa1’rGlnISerLeu (SEQ.ID.NO.: 24);
p) HaaXaaSerT’rGInISerN1e (SEQ.ID.NO.: 25);
q) Haa’l)rrGlnlSerNle (SEQ.ID.NO.: 26);
r) HaaXaaSer1rrG1nISerTIC (SEQ.ID.NO.: 27); s) HaalSrrGlnISerTIC (SEQ.ID.NO,: 28);
t) HaaXaaSerChgGlnlSerLeu (SEQ.ID.NO.: 29); u) HaaChgGlnlSerLcu (SEQ.ID.NO.: 30);
v) HaaXaaSerChgGlnlSerNle (SEQ.ID.NO.: 31);
w) HaaChgGlnlSerNle (SEQ.ID.NO.: 32);
x) HaaXaaSerChgGlnlSerTlC (SEQ.ID.NO.: 33);
y) HaaChgGlnlSerTIC (SEQ.ID.NO.: 34);
z) HaahArgChgGlnlSerLeu (SEQ.ID.NO.: 35); and
aa) HaahArg1rG]nISerLeu (SEQ.ID.NO.: 36).
In a more preferred embodiment of the instant invention, the oligopeptide comprises an oligomer selected from:
a) 4-HypXaaSerTyrGlnlSerSer (SEQ.ID.NO.: 37),
b) 4-HypXaaSer’TrrGlnISerAla (SEQ.ID.NO.: 38),
c) Ala-4-HypXaaSer’Tyr1’rISer (SEQ.ID.NO.: 39),
d) AlaAsn4-HypXaaSer1rGlnISer (SEQ.ID.NO.: 40), e) 4-HypXaaSer1’rGlnISerSerThr (SEQ.ID.NO.: 41), t) 4-Hypl)irGlnlSerSermr (SEQ.ID.NO.: 42),

5,948,750

5

g) 4.HypXaaSer1rrG1nISerSerSer (SEQ.ID.NO.: 43), ii) 4-HypTrrGlnISerSerSer (SEQ.ID.NO.: 44),
i) 4-HypXaaLys1’rGlnISerSerSer (SEQ.ID.NO.: 45), j) 4-HypXaahArgT’rGlnISerSerSer (SEQJD.NO.: 46), k) 4-HypXaaSerTrG1nISerSerLeu (SEQ.ID.NO.: 47);
1) 4-HyplyrGlnlSerSerLeu (SEQ.ID.NO.: 48);
m) 4-HypXaaSerTyrGlnlSerLeu (SEQ.ID.NO.: 49); n) 4-Hyp1rGin!SerLeu (SEQ.ID.NO.: 50);
p) 4-HypXaaSer1’rG1nISerNle (SEQ.ID.NO.: 51); ci) 4-Flyp11rGln1SerNle (SEQ.ID.NO.: 52);
r) 4-HypXaaSer1’rGlnISerTIC (SEQ.ID.NO.: 53); s) 4-HypirGlnISerTIC (SEQ.ID.NO.: 54);
t) 4-HypXaaSerChgGlnlSerLeu (SEQ.ID.NO.: 55);
ii) 4-HypChgGlnlSerLeu (SEQ.ID.NO.: 56);
v) 4-HypXaaSerChgGlnlSerNle (SEQ.ID.NO,: 57);
w) 4-HypChgGlnISerNle (SEQ.ID.NO.: 58);
x) 4-HypXaaScrChgGln!SerTIC (SEQ.ID.NO.: 59);
y) 4-HypChgGlnISer1IC (SEQ.ID.NO.: 60);
wherein 4-Hyp is 4-hydroxyproline, Xaa is any amino acid, hArg is homoarginine, Cha is cyclohexylalanine and Chg is cyelohexylglycine.
Preferably Xaa in the more preferred embodiment is selected from Ala, Ser and lie.
The phrase "ouigomers that comprise an amino acid sequence" as used hereinabove, and elsewhere in the Detailed Description of the Invention, describes oligomers of from about 3 to about 100 amino acids residues which include in their amino acid sequence the specific amino acid sequence decribed and which are therefore proteolytically cleaved within the amino acid sequence described by free PSA. Preferably, the oligomer is from 5 to 10 amino acid residues. Thus, for example, the following oligomer:

hArgSer4-HypChgGlalSerLeu (SEQ.ID.NO.: 61); comprises the amino acid sequence:

4-HypChgGlnlSerLeu (SEQ.ID.NO.: 56);
and would therefore come within the instant invention.
A person of ordinary skill in the peptide chemistry art would readily appreciate that certain amino acids in a biologically active oligopeptide may be replaced by other homologous, isosteric and/or isoeleetronic amino acids wherein the biological activity of the original oligopeptide has been conserved in the modified oligopeptide. Certain unnatural and modified natural amino acids may also be utilized to replace the corresponding natural amino acid in the oligopeptides of the instant invention. Thus, for example, tyrosine may be replaced by 3-iodotyrosine, 2-methyltyrosine, 3-fluorotyrosine, 3-methyltyrosine and the like. Further for example, lysine may be replaced with N-(2-imidazolyl)lysine and the like. The following list of amino acid replacements is meant to be illustrative and is not limiting:

Original Amino Acid Replacement Amino Acid(s)

Ala Oly
Arg Lys, Ornithine
Mn Gin

Asp Olu
Glu Asp
Gin Mn

Gly Ala
Ile ’Al, Leu, Met, Me
Len lie, WI, Met, Me

6

-continued

Original Amino Acid Replacement Amino Acid(s)

Lye Axg, Ornithine
5 Mat Leu, lie, Nle, Val
Ornithine Lys, Axg
Phe Tyr, Trp
Set Thr
Thr See

TO Phe, Tyr
10 Tyr
Wi Leu, Be, Met, Me

Thus, for example, the following oligopeptides may be synthesized by techniques well known to persons of ordi-15 nary skill in the art and would be expected to be proteolyti-cally cleaved by free PSA when incorporated in a conjugate of this invention:

Asn4-HypIleSer1rGlnISer (SEQ.ID.NO.: 62)

20 Asn4-HypVa1Ser1rGlnISer (SEQ.ID.NO.: 63)
4-HypA1aSer15rGlnlSerSer (SEQ.ID.NO.: 64)
(3,4 - d ih y d r ox yp r line)AlaSe rTy r Gin IS e r e r (SEQ.ID.NO.: 65)
3-hydroxyprolineSerChgGlnlSer (SEQ.ID.NO.: 66)
25 4-HypAlaSerChgGlnlSerSer (SEQ.ID.NO.: 67).
The inclusion of the symbol "I" within an amino acid sequence indicates the point within that sequence where the oligopeptide is proteolytically cleaved by free PSA.
The compounds of the present invention may have asym-
30 metric centers and occur as racemates, racemic mixtures, and as individual diastereomers, with all possible isomers, including optical isomers, being included in the present invention. Unless otherwise specified, named amino acids are understood to have the natural "L" stereoconfiguration.
35 The following abbreviations are utilized in the specifica-
tion and tables to denote the indicated amino acids and moieties:

40 hR or hArg: homoarginine
hY or h’r’r: hoinotyrosine
Cha: cyc1oheyiaianine
Amf: 4-sminomethylphenyiaianine
DPL: 2-(4,6-diniethyipyrimidinyi)lyaine
(imidszoiyi)K: N’-(2.imidazoiyi)iyaine

45 Me2PO3Y: 0-dimethyiphosphotyrosine

0MeY. O.methyltyrosine
TIC: I,2,3,4-tetrahydro-3-isoquinoiine
carboxylic acid
DAP: 1,3-diaminopropane
TFA: trifluoroacetic acid
AA: acetic acid

50 3PAL 3-pyridyi-aianine
4-}Ivp 4-hydroxyproline
Abu alpha-aminobutyric acid
Thi thienylalanine

55 It is well known in the art, and understood in the instant
invention, that peptidyl therapeutic agents such as the instant oligopeptide-cytotoxic agent conjugates preferably have the terminal amino moiety of any oligopeptide substituent pro-tected with a suitable protecting group, such as acetyl, 60 benzoyl, pivaloyl and the like. Such protection of the terminal amino group reduces or eliminates the enzymatic degradation ofsuch peptidyl therapeutic agents by the action of amino peptidases which are present in the blood plasma of warm blooded animals.
65 Such protecting groups also include a hydrophilic block-
ing groups, which are chosen based upon the presence of hydrophilic functionality. Blocking groups that increase the

5,948,750
7

hydrophiicity of the conjugates and therefore increase the aqueous solubility of the conjugates include but are not limited to hydroylatcd alkanoyl, polyhydroxylated alkanoyl, hydroylated aroyl, polyhydroxylated aroyl, polyethylene glycol, glycosylates, sugars and crown ethers. N-Terminus unnatural amino acid moieties may also ameleorate such enzymatic degradation by amino peptidases.
Preferably the N-terminus protecting group is selected from

a) acetyl:

b)

HOJLJ

R1 R2

C)

d)

wherein:

R1 and R2 are independently selected from:
a) hydrogen,
b) unsubstituted or substituted aryl, unsubstituted or substituted heterocycle, C3C10 cycloalkyl, C2C6 alkenyl, C2C alkynyl, halogen, C1C6 perfiuoroalkyl, R30, R3C(0)NR3, (R3)2NC (0), R3,NC(NR3)--, R4S(0)mNH, CN, NO2, R3C(0), N3, N(R3)2, or R4OC(0)NR3,
c) unsubstituted C1C6 alkyl,
d) substituted C1C6 alkyl wherein the substituent on the substituted C1C6 alkyl is selected from unsub-stituted or substituted aryl, unsubstituted or substi-tuted heterocyclic, C3C cycloalkyl, C27C5
alkenyl, C2C6 alkynyl, R30, R4S(0)mN}l, R3
(0)NR3, (R3)NC(0), R32NC(NR3), CN, R3C(0), N3, N(R)2, and R4OC(0)NR3; or
R and R2 are combined to form (CH) wherein one of the carbon atoms is optionally replaced by a moiety selected from: 0, S(0)m, NC(0), NH and
 N(COR4);

R3 is selected from: hydrogen, aryl, substituted aryl, heterocycle, substituted heterocycle, C1C6 alkyl and C3C10 cycloalkyl;
R4 is selected from: aryl, substituted aryl, heterocycle, substituted heterocycle, C1C6 alkyl and C3C10 cycloalkyl;
mis 0, 1 or 2;
n is 1,2,3 or 4;
p is zero or an integer between 1 and 100;
q is or 1, provided that if p is zero, q is 1;
r is an integer between 1 and 10; and
s is 3,4 or 5.
Preferably, r is 1, 2 or 3.
The oligopeptides of the instant conjugates comprise a cyclic amino acid substituted with a hydrophilic moiety, previously represented by the term "Haa", which may also be represented by the formula:

8

S

QH2)t

10

R5

wherein:

R5 is selected from HO and C1C6 alkoxy;
R6 is selected from hydrogen, halogen, ClCo alkyl,
Is HO and C1C6 alkoxy; and
t is 3 or 4.
The structure

20

25

C)H2t

represents a cyclic amine moiety having 5 or 6 members in the ring, such a cyclic amine which may be optionally fused to a phenyl or cyclohexyl ring. Examples of such a cyclic 30 amine moiety include, but are not limited to, the following specific structures:

N Z4 N

35 dcc;$

40

The conjugates of the present invention may have asym-metric centers and occur as racemates, racemic mixtures, and as individual diastereomers, with all possible isomers, 45 including optical isomers, being included in the present invention. When any variable (e.g. aryl, heterocycle, R3 etc.) occurs more than one time in any constituent, its definition on each occurence is independent of every other occurence. For example, HO(CR1R2)2 represents HOCH2CH2, 50 HOCH2CH(OH), HOCH(CH3)CH(OH), etc. Also, combinations of substituents and/or variables are permis-sible only if such combinations result in stable compounds. As used herein, "alkyl" and the alkyl portion of aralkyl and similar terms, is intended to include both branched and 55 straight-chain saturated aliphatic hydrocarbon groups hav-ing the specified number of carbon atoms; "alkoxy" repre-sents an alkyl group of indicated number of carbon atoms attached through an oxygen bridge.
As used herein, "cycloalkyl" is intended to include non-
60 aromatic cyclic hydrocarbon groups having the specified number of carbon atoms. Examples of cycloalkyl groups include cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl and the like.

"Alkenyl" groups include those groups having the speci-
65 fled number of carbon atoms and having one or several double bonds. Examples of alkenyl groups include vinyl, allyl, isopropenyl, pentenyl, hexenyl, heptenyl,

5,948,750
P

cyclopropenyl, cyclobutenyl, cyclopentenyl, cyclohexenyl, 1-propenyl, 2-butenyl, 2-methyl-2-butenyl, isoprenyl, farnesyl, geranyl, geranylgeranyl and the like.
"Alkynyl" groups include those groups having the speci-
fied number of carbon atoms and having one triple bonds. Examples of alkynyl groups include acetylene, 2-butynyl, 2-pentynyl, 3-pentynyl and the like.
1114alogen" or "halo" as used herein means fluoro, chioro, bromo and iodo.
As used herein, "aryl," and the aryl portion of aralkyl and aroyl, is intended to mean any stable monocyclic or bicyclic carbon ring of up to 7 members in each ring, wherein at least one ring is aromatic. Examples ofsuch aryl elements include phenyl, naphthyl, tetrahydronaphthyl, indanyl, biphenyl, phenanthryl, anthryl or acenaphthyl.
The term heterocycle or heterocyclic, as used herein, represents a stable 5- to 7-membered monocyclic orstable 8-to 11 -membered bicyclic heterocyclic ring which is either saturated or unsaturated, and which consists of carbon atoms and from one to four heteroatoms selected from the group consisting of N, 0, and S, and including any bicyclic group in which any ofthe above-defined heterocyclic rings isfused to a benzene ring. The heterocyclic ring may be attached at any heteroatom or carbon atom which results in the creation of a stable structure. Examples ofsuch heterocyclic elements include, but are not limited to, azepinyl, benzimidazolyl, benzisoxazolyl, benzofurazanyl, benzopyranyl, benzothiopyranyl, benzofuryl, benzothiazolyl, benzothienyl, benzoxazolyl, chromanyl, cinnolinyl, dihydrobenzofuryl, dihydroberizothienyl, dihydrobenzothiopyranyl, dihy-drobenzothiopyranyl sulfone, furyl, imidazolidinyl, imidazolinyl, imidazolyl, indolinyl, indolyl, isochromanyl, isoindolinyl, isoquinolinyl, isothiazolidinyl, isothiazolyl, isothiazolidinyl, morpholinyl, naphthyridinyl, oxadiazolyl, 2-oxoazepinyl, oxazolyl, 2-oxopiperazinyl,

H3C

2-oxopiperdinyl, 2-oxopyrrolidinyl, piperidyl, piperazinyl, pyridyl, pyrazinyl, pyrazolidinyl, pyrazolyl, pyridazinyl, pyrimidinyl, pyrrolidinyl, pyrrolyl, quina.zolinyl, quinolinyl, quinoxalinyl, tetrahydrofuryl, tetrahydroisoquinolinyl, tetrahydroquinolinyl, thiamorpholinyl, thiamorpholinyl sulfoxide, thiazolyl, thiazolinyl, thienofuryl, thienothienyl, and thienyl.
As used herein in the terms "substituted C alkyl", "substituted aryl" and "substituted heterocycle" include moieties containing from 1 to 3 substituents in addition to the point of attachment to the rest of the compound. Such additional substituents are selected from F, Cl, Br, CF3, NH2, N(C05 alkyl)2, NO2, CN, (C105 alkyl)O, OH, (CC6 alkyl)S(0),,,, (C1C6 alkyl)C(0)NH, H2NC (NH), (C1C alkyl)C(0), (C1C alkyl)OC(0), N31 (C05 alkyl)OC(0)NH and C1C20 alkyl.
The term "an integer between 1 and 1(Y" represents the numbers 1 and 10 as well as those integers between those numbers. The term "an integer between 1 and 100" repre-sents the numbers 1 and 100 as well as those integers between those numbers.

When R1 and R2 are combined to form (CH2), the cyclic moieties and heteroatom-containing cyclic moieties so defined include, but are not limited to:

10

5

j- ,1),,,

L L 10

0 S

H

15

r:"10,11 ’1

N) S

N

s
Fl 0
COR4
20

As used herein, the term "PEG" represents certain poly-ethylene glycol containing substituents having the desig-25 nated number of ethyleneoxy subunits. Thus the term PEG
(2) represents

30
0

and the term PEG(6) represents

114

As used herein, the term 11(2RX2,3-dihydroxypropionyl)" represents the following structure:
45
OH

50

As used herein, the term "(2R,3S) 2,3,4-trihydroxybutanoyl" represents the following structure:

55 OH 0

60

HO

FiF

Because the conjugates of the invention can be used for modifying a given biological response, cytotoxic agent is not to be construed as limited to classical chemical thera-

65 peutic agents. For example, the cytotoxic agent may be a protein or polypeptide possessing a desired biological activ-ity. Such proteins may include, for example, a toxin such as

5,948,750

11

abrin, ricin A, pseudomonas exotoxin, or diphtheria toxin; a protein such as tumor necrosis factor, a-interferon,
f3 -interferon, nerve growth factor, platelet derived growth
factor, tissue plasminogen activator; or, biological response modifiers such as, for example, lymphokines, interleukin-1 interleukin-2 ("IL-2"), interleukin6 ("IL-6"), granulocyte macrophage colony stimulating factor ("GM-CSF"), granulocyte colony stimulating factor ("G-CSF"), or other growth factors.
The preferred cytotoxic agents include, in general, alky-lating agents, antiproliferative agents, tubulin binding agents and the like. Preferred classes of cytotoxic agents include, for example, the anthracycline family of drugs, the ymca drugs, the mitomycins, the bleomycins, the cytotoxic nucleosides, the taxanes, the pteridine family of drugs, diynenes and the podophyllotoxins. Particularly useful members of those classes include, for example, doxorubicin, carminomycin, daunorubicin, aminopterin, methotrexate, methopterin, dichioro-methotrexate, mitomycin C, porfiromycin, 5-fluorouracil, 6-mercaptopurine, cytosine arabinoside, podophyllotoxin, or podophyllotoxin deriva-tives such as etoposide or etoposide phosphate, melphalan, vinbiastine, vincristine, leurosidine, vindesine, leurosine, taxol and the like. Other useful cytotoxic agents include

12

The Methotrexate Group of Formula (1)

(1)

H2N,.N N
cORe

N::J-?
N

?CUlNn&%_H2CH2M2H

R12 Re

10

in which
R12 is amino or hydroxy;
R7 is hydrogen or methyl;
R is hydrogen, fluoro, chioro, bromo or iodo;

R9 is hydroxy or a moiety which completes a salt of the is carboxylic acid;

The Mitomycin Group of Formula (2)

0
20

R2N II cH2000NH2

N
25

in which
R1° is hydrogen or methyl;
The Bleomycin Group of Formula (3)

(3)

NNH??CONH2

N N 0

ilT

.H2NN NH N

CR3
CH3
HO CU3

HO

estramustine, cisplatin and cyclophosphamide. One skilled
in the art may make chemical modifications to the desired cytotoxic agent in order to make reactions of that compound
more convenient for purposes of preparing conjugates of the invention.

A highly preferred group of cytotoxic agents for the present invention include drugs of the following formulae:

OH

in which

60 R11 is hydroxy, amino, C3C3 alkylamino, di(C1C3 alkyl)amino, C4C6 polymethylene amino,

- NHCHCH3CH2S CH3;
65 I
CH3

V5

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES

2020

Bogota, D.C.,

Abogado
EMILIO FERRERO
(Apoderado)

Radicación 04-97209
TrÆmite 002
Evento 001
ActuaciOn 430
Oficio
Folios 05

Patente de lnvención Ll

Via Nacional

Via PCT (fase nacional) ;

No. Sal. Internacional
Fecha de Presentaciôn Internal

Patente de Modelo de Utilidad

Cap.l Cap. II

PCT/US03/06657
03 de rnarzo de 2003

Coma resultado del examen de fondo, realizado con fundamento en el articulo 45 de la DecisiOn 486 de Ia ComisiOn de la Comunidad Andina, se le comunica:

1. Documentos estudiados

DescriociOn: Folios: 73 a 201

Reivind icaciones:

Ficiuras:

Prioridad:

Folios: 202 a 229
Folios: 263 a 268

Folios: 231 a 232

Folio: 2
Fecha: 01/03/2002
Pals: US
Nümero 60/360,831

como se radicO inicialmente

coma se radicó inicialmente
como se modificO el 24/07/08.

como se radicO inicialmente

Rta. del solicitante: Folios: 257 a 261 coma se radicO el 24/07/08

2. Objeto de la invención

TItulo modificado de la solicitud (folio 238): "Conjugados unidos a carbamato
de agentes terapØuticos o citotóxicos y pØptidos biologicamente activos".

La presente solicitud se refiere a conjugados de agentes terapØuticos o citotôxicos y pØptidos biolOgicamente activos unidos a carbamato.

El problema planteado en esta solicitud es la necesidad de medios efectivos
para la uniOn de agentes citotóxicos y molØculas de interØs, como pØptidos biolOgicamente activos o anticuerpos, a la vez que se mantenga la actividad de cada componente para maximizar el efecto terapØutico deseado y se minimice la toxicidad de los mismos.

Para solucionar este problema tØcnico la solicitud en estudio proporciona conjugados de agentes terapØuticos o citotOxicos y una molØcula blanco. Dichos conjugados presentan la siguiente fOrmula general.

La ClasificaciOn Internacional de Patentes (IPC) es: C07 K, A61 K 38/08, A61K47/42 y 31/27.

3. De la solicitud de Patente

Reivindicaciones (articulo 30 D 486)

El capItulo reivindicatorio de la solicitud en estudio presenta los siguientes defectos:

El capItulo reivindicatorio en general posee una amplitud que excede lo desarrollado por el solicitante, presenta una estructura de uniOn a tres compuestos que pueden presentar multiples variaciones y que no se encuentran definidos inequlvocamente. Tal es el caso de los "agentes citotôxicos", de los cuales nose tiene sustento de su acciOn terapeuticajunto con la molØcula en cuestiôn y las multiples opciones de dichos compuestos. En resumen, ünicamente existe sustento para los compuestos de camptotecina como agente citotOxico en los ejemplos, por lo que no se puede extrapolar una acciOn terapØutica a todos los compuestos citotOxicos reivindicados.

La multiple cantidad de compuestos posibles, no permiten determinar el alcance de la invenciôn ni los compuestos que realmente tienen acciOn terapØutica. Por ejemplo los sustituyentes en Y pueden ser una cantidad ilimitada de pØptidos o poilmeros, que no tienen relaciOn alguna entre Si ni estructural ni funcionalmente por lo tanto no es aceptable una definiciOn tan amplia para una secuencia espaciadora.

La expresiOn "porciOn objetivo" no corresponde a una caracterIstica tØcnica del compuesto que se pretende reivindicar, es importante resaltar que las caracterIsticas novedosas de la invenciOn deben ser definidas por su estructura o su secuencia.

27-6-1

Por lo anterior, el capitulo reivindicatorio NO cumple con el requisito de definiciôn, claridad, concision o sustento por la descripciôn de acuerdo al art. 30
de Ia Decision 486.yl6 art.22 Tratado PCT.

4. Determinación del Estado de la Tócnica

La fecha que se ha tenido en cuenta para determinarel Estado de la TØcnica es:

Fecha de presentación de la solicitud prioritaria: 01 de marzo de 2002

Teniendo en cuenta la fecha indicada se realizO la busqueda en el estado de Ia tØcnica de documentos relacionados con la solicitud encontrÆndose los siguientes documentos mÆs. relevantes:

NO Documento Titulo Fecha de
patente

Conjugates useful in the 7 septiembre de Dl US 5.948.750 treatment of prostate cancer 1999

5. AnÆlisisde patentabilidad (articulo 14 D486)

A pesar de las objeciones presentadas al capitulo reivindicatorio, se efectuO el analisis de patentabilidad segUn la estructura general presentada.

5.1. Nivel inventivo (artIculol8 D486)

La reivindicaciôn 1 y sus dependientes divulgan un compuesto representado
por la siguiente formula:

0

X

0
R

Donde X es un agente citotOxico.

El documento del Estado de la TØcnica mÆs prOximo es Dl que enseæa un conjugados que comprenden agentes citotOxicos (X) unidos a pØptidos como [as posibles sustituciones del R3, mediante un compuesto de uniOn que presenta una estructura similar ala reivindicada (verfigura 3, columna 12), igualmente con un radical R.

La ünica diferencia con Dl es que esta solicitud presenta la estructura de uniOn con un sustituyente en el grupo amino del carbamato. Tal diferencia no parece

ha,

F

27

producir un efecto sorprendente ya la función y el compuesto continua siendo un agente citotOxico ütil en el tratamiento contra el cancer.

El problema tØcnico planteado en esta solicitud que era de proporcionar un media efectivo para la union de agentes citotôxicos y molØculas de interØs, como pØptidos biolôgicamente activos a anticuerpos, se habla resuelto previamente mediante el mismo tipo de compuestos ya conocidos. Por esta razón se considera que las sustituciones de los grupos citotOxicos, y los radicales R y R3 como pØptidos biolOgicamente activos, son evidentes para una persona medianamente versada en la materia.

De esta forma se establece que las reivindicaciones I a 32 no cumplen con el requisito de Nivel Inventivo.

6. Conclusion:

Los requisitos de patentabilidad de la presente solicitud se encuentran afectados as!:

NO Documento N° Reivindicaciones Requisito que afecta afectadas I
Dl US 5.948.750 1-32 Nivel Inventivo

En cumplimiento del articulo 45 de la Decision 486 de la ComisiOn de la Comunidad Andina, se le indica que debe dar respuesta dentro del tØrmino de 60 dias contados a partir de la fecha de notificaciOn de la presente comunicaciOn. En caso de no dar respuesta al presente requerimiento, a si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesiOn, se denegarÆla patente.

Notifiquese el presente oficio conforme a Ia dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capitulo quinto deltItulo primero de la Circular Unica NO 10 de 2001.

JESUS FERNEL GARCIA GARCIA
Director de Nuevas Creaciones (E)

El anterior requerimiento fue notificado por fijaciOn en lista, de fecha

CONCEPTO TECNICO EXAMINADOR TECNICO
No. 4072 COdigo No. 202089